

## 系統差と塩混合がラットの鉄出納に及ぼす影響

前田宜昭

## Effect of Strain Difference and Mineral Mixture on Iron Balance in Rats.

YOSHIAKI MAEDA

The objectives of the present study were to determine iron(Fe) balance of four strains of young male rat. The strains tested were Wistar, Fischer, Sprague-Dawley and Donryu rats. Rats from each strain were divided into two groups and fed either a diet supplemented with Harper's mineral mixture or a diet supplemented with AIN-76 mineral mixture. Dietary mineral mixture was set at 4.0% for each diet. The measurement of Fe were performed by the method of atomic absorption spectroscopy. The net absorption of iron was calculated from iron balance, ie, net absorption, % = (Fe intake - fecal Fe) / Fe intake  $\times$  100. All data were examined by the analysis of variance. Food intake was no significant difference both a diet supplemented with Harper's mineral mixture and a diet supplemented with AIN-76 mineral mixture. The strain difference affected significantly fecal and urinary Fe excretion, Fe absorption and Fe balance. However, fecal Fe excretion and Fe balance was not affected significantly by change of the mineral mixture. No strain difference resulted in a significant change in comparison with Fe balance per weight gain during balance study.

ミネラルに関する基礎研究の多くは、被検動物としてラットを用いたものが少なく、これらの同じ研究目的の実験であっても、必ずしもその結果は同一傾向を示していない。その原因は、実験計画の性差や週齢差などは比較検討しているが、被検動物の系統に関しては記載されるまでにとどめられ、あまり考慮が払われていない可能性も考えられる。そこで、本研究においてミネラル代謝の基礎研究を行うにあたり出納試験という手法を用いて、被検動物の系統の違いがミネラル代謝にどのような影響を生じるか、また同時に飼料中のミネラル混合を変化させた時にどのような影響を認めるかをあわせて比較検討した。本報

では鉄の出納を中心に報告する。

## 実 験 方 法

## 1. 実験動物および飼育条件

被検動物として生後4週齢の4系統(Wistar系, Fischer系, Sprague-Dawley系およびDonryu系)の雄ラット、各12匹を日本クレア(株)より購入し使用した。標準食で7日間予備飼育した後、各系統ごとに表1に示した飼料組成のうちミネラル混合だけを変えたハーバーミネラル混合(表2.)添加食群とAIN-76ミネラル混合(表3.)添加食群の2群に分け、合計8群48匹(1系統につき6匹)を21日間飼育した。

Key Words: strain of rat, iron balance, mineral mixture

飼育は、室温21～23℃、相対湿度50～55%、  
明暗が12時間サイクルに照明制御された動物

室で行った。ラットはステンレス製の6連ゲージを1群に用い、1匹ずつ個別飼育した。

表 1 精製飼料組成 (%)

原 料	AIN-76塩混合食	ハーバー塩混合食
カゼイン (ミルク)	20.0	20.0
スターチ (コーン)	70.0	70.0
油 (コーン)	5.0	5.0
ミネラル混合		
AIN-76塩混合	4.0	—
ハーバー塩混合	—	4.0
ビタミン混合	1.0	1.0

表 2 AIN-76塩混合組成

原 料	塩混合 1 kg中の量
第2リン酸カルシウム	500g
塩化ナトリウム	74g
クエン酸カリウム・1水塩	220g
硫酸カリウム	52g
酸化マグネシウム	24g
炭酸マンガン	3.5g
クエン酸第2鉄	6.0g
炭酸亜鉛	1.6g
炭酸銅	0.3g
ヨウ素酸カリウム	10mg
亜セレン酸ナトリウム	10mg
硫酸クロムカリウム	550mg
ショ糖粉末	全量が1kgとなるようにする

表 3 ハーバー塩混合組成

原 料	塩混合 1 kg中の量
第2リン酸カルシウム・2水塩	4.3g
炭酸カルシウム	292.9g
塩化ナトリウム	250.6g
リン酸2水素カリウム	343.1g
硫酸マグネシウム・7水塩	99.8g
硫酸マンガン・4～6水塩	1.21g
クエン酸鉄	6.23g
塩化亜鉛	0.2g
硫酸銅・5水塩	1.56g
ヨウ素カリウム	5mg
モリブデン酸アンモン	25mg

飲水には蒸留水を用い、飼料と飲水は自由摂取で供給した。飼料および飲水は毎日交換した。

## 2. 出納試験および鉄の測定

出納期間は、飼育開始14日目からラットを代謝ゲージに移し、予備出納2日間行った後、5日間にわたり糞尿を採集した。出納試験5日間で集めた尿は、蒸留水で100mlに定容した濾過液を105℃で乾燥し、電気炉で550℃、48時間乾式灰化した。灰化した試料に1N-塩酸液10mlを加えて溶解し、蒸留水で50mlに定容した後、随時希釈し分析に供した。糞は体毛を除去し105℃で乾燥し、ミル粉碎器で粉状にしてから尿と同様の操作で行った。飼料中、糞中および尿中铁濃度の測定は、原子吸光度法を用いて行った。吸収量は、摂取量から糞中排泄量を差し引いた見かけの値とし、体内保留量は、その吸収量から尿中排泄量を差し引いて算出した。また糞中排泄率、吸収率、尿中排泄率および体内保留率は、摂取量あた

りの百分率で算出した。

## 3. 統計処理

系統差あるいはミネラル混合の影響は、すべての群の分散が等しいことを確認し、分散分析で統計処理した。求められたP値が危険率5%より小さい場合に、各要因（系統差・ミネラル混合）による影響が認められると判定した。

## 実験結果および考察

### 1. 鉄出納に及ぼす系統差とミネラル混合の影響

飼料摂取量には系統差がみられたが、塩混合の違いはなかった。鉄摂取量は、塩混合の組成の違いにより差がみられた(表6)。糞中排泄量は系統差がみられたが、塩混合の違いはみられなかった(表6)。鉄吸収量ならびに尿中排泄量は、系統差と塩混合で差がみられた(表6)。鉄保留量は系統差がみられたが、塩混合の違いはなかった(表6)。

表 4 鉄出納 (期間 5 日間)

系統	塩混合	飼料摂取量 (mg)	鉄摂取量 (μg)	糞中铁排泄量 (μg)	鉄吸収量 (μg)	尿中铁排泄量 (μg)	鉄保留量 (μg)
Donryu系	AIN-76	122.7±4.0	8407±276	3344±212	5063±199	356±45	4708±226
	ハーバー	121.3±1.7	7691±107	2555±135	5137±99	203±34	4934±70
Fischer系	AIN-76	94.2±1.9	6453±131	2892±138	3561±57	226±24	3336±73
	ハーバー	93.3±5.0	5918±318	3228±206	2690±453	169±24	2521±454
Sprague-Dawley系	AIN-76	142.3±4.4	9750±300	3370±145	6380±279	551±79	5829±298
	ハーバー	156.0±4.2	9892±264	3910±102	5981±246	257±46	5724±227
Wistar系	AIN-76	108.4±1.5	7428±103	2559±118	4869±126	145±19	4723±139
	ハーバー	111.7±4.5	7086±287	2838±112	4248±199	152±17	4096±191

表 5 鉄摂取量当たりの鉄出納 (期間 5 日間)

系統	塩混合	糞中铁排泄率(%)	鉄吸収率(%)	尿中铁排泄率(%)	鉄保留率(%)
Donryu系	AIN-76	39.5±1.9	60.5±1.9	4.3±0.5	56.0±2.1
	ハーバー	33.0±1.4	67.0±1.4	2.8±0.5	64.0±1.2
Fischer系	AIN-76	44.8±1.4	55.2±1.4	3.7±0.3	51.7±1.5
	ハーバー	56.2±6.6	43.8±6.6	3.0±0.5	41.2±6.8
Sprague-Dawley系	AIN-76	34.5±1.4	65.5±1.4	5.5±0.8	59.7±2.1
	ハーバー	39.5±1.1	60.5±1.1	2.3±0.4	57.7±1.3
Wistar系	AIN-76	34.5±1.5	65.5±1.5	2.0±0.4	63.7±1.5
	ハーバー	41.2±0.9	59.8±0.9	2.2±0.3	57.7±0.8

また、鉄摂取量当たり割合で比較すると、糞中排泄率、鉄吸収率および尿中排泄率は、系統差と塩混合で差がみられた(表7)。鉄保留率は、絶対量と同様に系統差がみられたが、塩混合の違いはなかった(表7)。

## 2. 系統毎の鉄出納に及ぼす塩混合の影響

Donryu系ラットを用いて塩混合の違いを観察すると、糞中ならびに尿中排泄量には差がみられた(表8)。また鉄摂取量当たりの比較では、糞中排泄率、鉄吸収率および鉄保留率には差がみられたが、尿中排泄率は塩混合の影響がみられなかった(表9)。

Fischer系ラットにおいては、飼料摂取量、鉄摂取量、糞中ならびに尿中排泄量、鉄吸収量および鉄保留量には塩混合の影響がみられなかった(表8)。また同様に、鉄摂取量当

りの比較でも塩混合の影響がみられなかった(表9)。

また、Sprague-Dawley系ラットでは、飼料摂取量に塩混合の影響が観察された。糞中ならびに尿中排泄量は、Donryu系と同様に塩混合の影響がみられた(表8)。鉄摂取量当たりの比較では、鉄保留率には塩混合の影響がみられなかったものの、糞中ならびに尿中排泄率、鉄吸収率には塩混合の影響がみられた(表9)。

さらにWistar系ラットでは、鉄吸収率ならびに鉄保留量に塩混合の違いが観察された(表8)。

鉄摂取量当たりの比較では、糞中排泄率、鉄吸収率および鉄保留率には塩混合の影響が観察された(表9)。

表 6 鉄出納の二元配置分散分析

	飼料摂取量 (mg)	鉄摂取量 ( $\mu$ g)	糞中鉄排泄量 ( $\mu$ g)	鉄吸収量 ( $\mu$ g)	尿中鉄排泄量 ( $\mu$ g)	鉄保留量 ( $\mu$ g)
要因1:系統	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
要因2:塩混合	有意差なし	0.05	有意差なし	0.01	0.01	有意差なし
要因1:系統×要因2:塩混合	有意差なし	有意差なし	0.01	有意差なし	0.01	有意差なし

表 7 鉄摂取量当たりの鉄出納の二元配置分散分析

	糞中鉄排泄率(%)	鉄吸収率(%)	尿中鉄排泄率(%)	鉄保留率(%)
要因1:系統	0.01	0.01	0.01	0.01
要因2:塩混合	0.05	0.05	0.01	有意差なし
要因1:系統×要因2:塩混合	0.05	0.05	0.01	0.05

表 8 系統別鉄出納の一元配置分散分析

要因:塩混合	飼料摂取量(mg)	鉄摂取量( $\mu$ g)	糞中鉄排泄量( $\mu$ g)	鉄吸収量( $\mu$ g)	尿中鉄排泄量( $\mu$ g)	鉄保留量( $\mu$ g)
Donryu系	有意差なし	0.05	0.05	有意差なし	0.05	有意差なし
Fischer系	有意差なし	有意差なし	有意差なし	有意差なし	有意差なし	有意差なし
Sprague-Dawley系	0.05	有意差なし	0.05	有意差なし	0.01	有意差なし
Wistar系	有意差なし	有意差なし	有意差なし	0.05	有意差なし	0.05

表 9 系統別鉄摂取量当たりの鉄出納の一元配置分散分析

要因:塩混合	糞中鉄排泄率(%)	鉄吸収率(%)	尿中鉄排泄率(%)	鉄保留率(%)
Donryu系	0.05	0.05	有意差なし	0.01
Fischer系	有意差なし	有意差なし	有意差なし	有意差なし
Sprague-Dawley系	0.05	0.05	0.01	有意差なし
Wistar系	0.01	0.01	有意差なし	0.01

## 考 察

私たちヒトそのものについて観察することは制約があり、そこで必然的に被検動物を用いた栄養実験を実施することになってくる。特にラットは、取り扱いの容易さと入手しやすい点やヒトと種々の部分で共通する部分がある点など<sup>1)</sup>から栄養実験に被検動物として用いられることが多い。ラットの生理や代謝は遺伝的要因のほか、栄養条件にも左右されるので、その飼育にあたっては栄養必要量が検討され、AIN (米国栄養研究所)<sup>2)</sup>やNAS-NRC (米国科学アカデミー国家研究会議)<sup>3)</sup>などで精製標準飼料が設定されているのが現状である。しかし、標準試料に関してはほぼ同一条件が設けられたが、原料の種類や質、また給餌様式の違いなどから飼料摂取量に影響を及ぼし、実験結果に変動が生じることが報告されている<sup>4,5)</sup>。

今回、我々は4週齢(成長期)の各種ラットを用いて、原料の種類や質、また給餌様式を同条件にし、塩混合量のみを変化させたときの系統ごとの鉄出納の変動を観察した。用いた塩混合中に含まれる鉄量は、ハーバー塩混合がクエン酸鉄で0.623%、AIN-76塩混合がクエン酸第2鉄で0.6%の理論値を示している(表2, 3)。実測値は、前者が0.634%、後者が0.685%であった。

鉄は細胞外液中では、タンパク質と結合してトランスフェリンとして存在している。よって、汗、尿、外分泌液、または糞に含まれて体外に失われる量は極めて少なく、鉄損失を起こす主な経路は上皮細胞の剥離、および月経出血であるといわれている<sup>6)</sup>。また鉄は、食物として摂取されたうちで1 mg程度しか吸収されず、排泄も特別の形態が存在し、からだは鉄欠乏症を起こさないように独特な機構をもっている。鉄は人体には総量で3~4 g存在するが、60%強が赤血球のタンパクであるヘモグロビンのヘムの鉄として、酸素の結合・解離を行っている。

各種ラットの鉄出納を比較すると、鉄保留

量ではDonryu系が4821 $\mu$ g、Fischer系が2928 $\mu$ g、Sprague-Dawley系が5777 $\mu$ g、Wistar系が4410 $\mu$ gであった。Fischer系を1.0とするとDonryu系が1.7、Sprague-Dawley系が2.0、Wistar系が1.5を示した。ところで、各ラットの成長増加量、いわゆる体重増加量が出納期間中ではDonryu系が36.7g、Fischer系が17.6g、Sprague-Dawleyが38.0g、Wistarが29.8gであった。鉄保留量と同様にFischer系を1.0とすると、Donryuが2.1、Sprague-Dawleyが2.2、Wistarが1.7の割合で増加している。他の系統は、Fischer系に比べて約2倍の成長割合を示す結果が得られた。さらにこれらの数値を用いて、体重増加量当たりの鉄保留量で換算し、その数値をFischer系を1.0として相対的に比較すると、Donryu系が0.8、Sprague-Dawleyが0.9、Wistarが0.9の割合を示し、どの系統も差がみられなくなった。このことから体重増加量、いわゆる成長割合は鉄保留量にある程度依存していることが示唆された。この解釈については、体重が増加するとそれだけ体液量も増加するので、血液の希釈が起きることが予想される。その分、貧血を起こさないための生体内の機構が働き、また造血も盛んに行われるようになる。鉄の要求量は、摂取される鉄量に反映して体重の増減率を調節することで維持されていると考える。よって出納試験の結果から、系統差とは鉄に限らず、栄養素摂取の量やバランスに応じて、生育の割合を調節する機構が各々で異なり、その調節の機構は腸管での吸収であったり、尿などの排泄の機構であると推測することができるが、さらに詳細な検討が必要であると考えた。

## 要 約

成長期の4系統(Wistar系、Fischer系、Sprague-Dawley系およびDonryu系)の雄ラットを用いて、ミネラル混合だけを変えたハーバーミネラル混合添加食群とAIN-76ミネラル混合添加食群を自由摂取で与えて21日間飼育した。

飼料摂取量、糞中排泄量および鉄保留量には系統差がみられたが、塩混合の違いはみられなかった。鉄吸収量ならびに尿中排泄量は系統差と塩混合で差がみられた。また、鉄摂取量当たり割合で比較すると、糞中排泄率、鉄吸収率および尿中排泄率は系統差と塩混合で差がみられた。鉄保留率は系統差がみられたが、塩混合の違いはみられなかった。鉄保留量を出納期間中の体重増加量当たりで算出すると、各系統の差がみられなくなった。

本実験を行うに際し、ご指導下さいました東京農業大学栄養生理化学研究室の五島孜郎先生、鈴木和春助先生、上原万里子先生およびご協力下さった研究員の皆様に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) H. H. DONALDSON : The Rat, Data and Reference Tables, 2nd Ed., Wistar Inst. (1924)

- 2) American Institute of Nutrition : Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies, J. Nutr., **107**, 1340 (1977)
- 3) National Academy of Science. National Research Council, U.S.A. Nutrient Requirements of Domestic Animals. No.10, Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Second revised edition, **52** (1972)
- 4) Fabry, P. : Handbook of Physiology, Code, C.F. (Editor), Sec.6., **1**, **31** (1967) Am. Physiol. Soc., Washington, D.C.
- 5) Fabry, P. : Feeding Pattern and Nutritional Adaptations (1969) Prague, Academia and London, Butterworths.
- 6) 厚生省保健医療局健康増進栄養課監修 : 第五次改定日本人の栄養所要量、第一出版 (1994)